

Title	「アSEMBル型」組織形成法によるin vitroグリンパシシステムの構築
Sub Title	Construction of in vitro glymphatic system with "assemble" tissue engineering
Author	尾上, 弘晃(Onoe, Hiroaki)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>2020年度（3年計画の2年目）は，ゲルチューブ内で血管組織の培養及び組織化を行った．研究計画1年目に行っていた血管内皮細胞の培養実験を通して，グリンパシシステム構築のために十分な機能性を血管に持たせるためには，詳細な培養条件の検討による細胞間の結合状態の制御が必要であることが判明した．そのため，細胞間の結合の確認及び化学物質に対する反応性の確認，さらに化学物質流入のための灌流システムの構築を行った．</p> <p>具体的には，ゲルチューブ内でヒト血管内皮細胞を培養し増殖させた後，タイトジャンクションの形成を確認した．タイトジャンクションとは血管内皮特有の結合方式で，物質の透過性を制御し，生体内での物質輸送に大きな役割を果たしている．この結合の形成は，結合タンパクの免疫染色および蛍光高分子の流入により確認された．さらに血管組織に対し，細胞間結合の弛緩作用を持つ化学物質暴露させることで結合機能や物質透過性の変化および応答の確認を行っている．血管内腔への炎症メディエータ（ヒスタミン）の曝露試験の結果，タイトジャンクションの構造変化により透過性が低下するなど，生体内と同様の生化学的応答を血管内皮細胞が示すことが確認された（板井駿・尾上弘晃，第11回マイクロナノ工学シンポジウム，2020年10月発表）．さらに技術的に灌流培養を安定して実施するため，ゲルチューブとチューブとの接続法の改善を実施した．具体的にはシリコンチューブ表面をシランカップリング剤により分子修飾し，コラーゲンのリシンのアミノ基との結合を促進することで，灌流培養液の漏れを少なくする改良を実施した．これにより実験の安定性が向上し，長期培養や灌流速度を調整した実験が可能となった．</p> <p>In FY2020 (the second year of the three-year research plan), we cultured and organized vascular tissue in gel tubes. Through the culture experiments of vascular endothelial cells conducted in the first year of the research plan, it was found that to provide blood vessels with sufficient functionality for the construction of the glial system, it was necessary to control the state of cell-cell junctions by examining the detailed culture conditions. Therefore, we confirmed the cell-cell junctions and reactivity to chemical substances and constructed a perfusion system for the chemical influx. Specifically, we cultured human vascular endothelial cells in gel tubes and confirmed the formation of tight junctions. Tight junctions are a unique binding system of vascular endothelium, which controls the permeability of substances and plays a major role in the transport of substances in vivo. The formation of these junctions was confirmed by immunostaining of the binding proteins and influx of fluorescent polymers. Besides, we have exposed vascular tissues to chemicals that relax intercellular junctions and have confirmed changes in the binding function, permeability and response. As a result of the exposure test of inflammatory mediators (histamine) to the lumen of blood vessels, it was confirmed that vascular endothelial cells showed biochemical responses similar to those in vivo, such as reduced permeability due to structural changes in tight junctions (Shun Itai and Hiroaki Onoe, presented at the 11th Micro-Nano Engineering Symposium, October 2020).</p> <p>In addition, we improved the connection method between the gel tube and the tube to perform stable perfusion culture technically. Specifically, we modified the silicone tubing surface with a silane coupling agent to promote bonding with the amino group of collagen lysine, thereby reducing the leakage of perfusion culture fluid. As a result, the stability of the experiment was improved, and it became possible to perform long-term culture and experiments with a controlled perfusion rate.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0023

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,500 千円
	氏名	尾上 弘晃	氏名 (英語)	Hiroaki Onoe		
研究課題 (日本語)						
「アセンブル型」組織形成法による in vitro グリンパシステムの構築						
研究課題 (英訳)						
Construction of in vitro glymphatic system with "assemble" tissue engineering						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
尾上弘晃 (Hiroaki Onoe)		理工学部・機械工学科・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>2020 年度 (3 年計画の 2 年目) は、ゲルチューブ内で血管組織の培養及び組織化を行った。研究計画 1 年目に行っていた血管内皮細胞の培養実験を通して、グリンパシステム構築のために十分な機能性を血管に持たせるためには、詳細な培養条件の検討による細胞間の結合状態の制御が必要であることが判明した。そのため、細胞間の結合の確認及び化学物質に対する反応性の確認、さらに化学物質流入のための灌流システムの構築を行った。</p> <p>具体的には、ゲルチューブ内でヒト血管内皮細胞を培養し増殖させた後、タイトジャンクションの形成を確認した。タイトジャンクションとは血管内皮特有の結合方式で、物質の透過性を制御し、生体内での物質輸送に大きな役割を果たしている。この結合の形成は、結合タンパクの免疫染色および蛍光高分子の流入により確認された。さらに血管組織に対し、細胞間結合の弛緩作用を持つ化学物質暴露させることで結合機能や物質透過性の変化および応答の確認を行っている。血管内腔への炎症メディエータ(ヒスタミン)の曝露試験の結果、タイトジャンクションの構造変化により透過性が低下するなど、生体内と同様の生化学的応答を血管内皮細胞が示すことが確認された(板井駿・尾上弘晃, 第 11 回マイクロナノ工学シンポジウム, 2020 年 10 月発表)。</p> <p>さらに技術的に灌流培養を安定して実施するため、ゲルチューブとチューブとの接続法の改善を実施した。具体的にはシリコーンチューブ表面をシランカップリング剤により分子修飾し、コラーゲンのリシンのアミノ基との結合を促進することで、灌流培養液の漏れを少なくする改良を実施した。これにより実験の安定性が向上し、長期培養や灌流速度を調整した実験が可能となった。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>In FY2020 (the second year of the three-year research plan), we cultured and organized vascular tissue in gel tubes. Through the culture experiments of vascular endothelial cells conducted in the first year of the research plan, it was found that to provide blood vessels with sufficient functionality for the construction of the glial system, it was necessary to control the state of cell-cell junctions by examining the detailed culture conditions. Therefore, we confirmed the cell-cell junctions and reactivity to chemical substances and constructed a perfusion system for the chemical influx.</p> <p>Specifically, we cultured human vascular endothelial cells in gel tubes and confirmed the formation of tight junctions. Tight junctions are a unique binding system of vascular endothelium, which controls the permeability of substances and plays a major role in the transport of substances in vivo. The formation of these junctions was confirmed by immunostaining of the binding proteins and influx of fluorescent polymers. Besides, we have exposed vascular tissues to chemicals that relax intercellular junctions and have confirmed changes in the binding function, permeability and response. As a result of the exposure test of inflammatory mediators (histamine) to the lumen of blood vessels, it was confirmed that vascular endothelial cells showed biochemical responses similar to those in vivo, such as reduced permeability due to structural changes in tight junctions (Shun Itai and Hiroaki Onoe, presented at the 11th Micro-Nano Engineering Symposium, October 2020).</p> <p>In addition, we improved the connection method between the gel tube and the tube to perform stable perfusion culture technically. Specifically, we modified the silicone tubing surface with a silane coupling agent to promote bonding with the amino group of collagen lysine, thereby reducing the leakage of perfusion culture fluid. As a result, the stability of the experiment was improved, and it became possible to perform long-term culture and experiments with a controlled perfusion rate.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
板井駿, 尾上弘晃	コラーゲンゲルチューブを用いた血管内皮細胞の化学応答再現	日本機械学会 第 11 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム	2020 年 10 月 26 日			